



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **08005633 A**(43) Date of publication of application: **12.01.96**

(51) Int. Cl.

G01N 33/53
G01N 33/531
G01N 33/532
G01N 33/576

(21) Application number: **06156468**(71) Applicant: **DAINABOTSUTO KK**(22) Date of filing: **16.06.94**(72) Inventor: **YOSHIMURA TORU**

**(54) MEASURING METHOD OF SPECIFIC IGM
 ANTIBODY AND ITS REAGENT**

(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain a positive diagnostic detection method by detecting a specific IgM, e.g. an antibody related to HAV(hepatitis A virus), or reducing the dilution ratio of predilution thereby realizing the measurement over a wide range and enhancing the detection rate of hepatitis A virus disease.

CONSTITUTION: A sample is diluted, as required, by a buffer, a dilution liquid or an aqueous solution and then it is further diluted by at least IgM or an aqueous solution containing IgM. S specific IgM antibody in the sample is then caused to react on a solid carrier bonded with an antihuman IgM antibody and the IgM antibody in the sample is caused to react immunologically on a solid phase antihuman IgM antibody to obtain a reaction

produce. The reaction product is then caused to react immunologically on a specific antigen reagent and further caused to react immunologically on a labeled antibody for an antigen reagent or an antigen produced by labeling the reaction product with a specific antigen reagent thus measuring a specific IgM antibody.

COPYRIGHT: (C)1996,JPO

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-5633

(43)公開日 平成8年(1996)1月12日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N	33/53	N		
	33/531	A		
	33/532	A		
	33/576	A		

審査請求 未請求 請求項の数10 F D (全 10 頁)

(21)出願番号 特願平6-156468

(22)出願日 平成6年(1994)6月16日

(71)出願人 000109015

ダイナボット株式会社

東京都港区六本木1-9-9 六本木ファーストビル

(72)発明者 吉村 徹

千葉県松戸市稔台344番地 ダイナボット株式会社総合研究所内

(74)代理人 弁理士 水野 昭宣

(54)【発明の名称】 特異的 I g M 抗体の測定法及びその試薬

(57)【要約】 (修正有)

【目的】特異的な I g M、例えば、H A V 関連抗体を検出したり、前希釈の希釈倍率を低減せしめてより広範囲の測定を可能にし、例えば、A型肝疾患などの疾患における検出率を高めたりし、確実な診断・検出方法を提供する。

【構成】(1)測定対象試料を必要に応じ緩衝剤、希釈液又は希釈剤の水溶液で希釈し、つぎに試料を少なくとも I g M または I g M 含有水溶液により希釈した後、試料中の測定対象特異性 I g M 抗体を、抗ヒト I g M 抗体結合固体担体と反応させて試料中の I g M 抗体を固相抗ヒト I g M 抗体と免疫学的に反応させ、(2)(a)得られた反応生成物に特定の抗原試薬を免疫学的に反応させ、さらに抗原試薬に対する抗体を標識剤で標識した標識抗体を免疫学的に反応させるか、又は(b)得られた反応生成物に特定の抗原試薬を標識剤で標識した標識抗原を免疫学的に反応させることにより特異的 I g M 抗体の測定がなされる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 抗ヒトIgM抗体試薬を使用して、被検試料中の対象抗原に対する特異的IgM抗体を免疫学的に測定する方法において、被検試料を少なくともIgMまたはIgM含有水溶液により希釈することを特徴とする特異的IgM抗体の測定方法。

【請求項2】 特異的IgM抗体が感染初期のIgM抗体である請求項1記載の特異的IgM抗体の測定法。

【請求項3】 特異的IgM抗体が感染初期のHAVに対するIgM抗体又はHBcに対するIgM抗体である請求項1又は2記載の特異的IgM抗体の測定法。

【請求項4】 測定対象試料が、全血、血清、または血漿である請求項1～3のいずれか一記載の特異的IgM抗体の測定法。

【請求項5】 (1) 測定対象試料を必要に応じ緩衝剤、希釈液又は希釈剤の水溶液で希釈し、つぎに試料を少なくともIgMまたはIgM含有水溶液により希釈した後、試料中の測定対象特異性IgM抗体を、抗ヒトIgM抗体結合固体担体と反応させて試料中のIgM抗体を固相抗ヒトIgM抗体と免疫学的に反応させ、(2)

(a) 得られた反応生成物に特定の抗原試薬を免疫学的に反応させ、さらに抗原試薬に対する抗体を標識剤で標識した標識抗体を免疫学的に反応させるか、又は(b) 得られた反応生成物に特定の抗原試薬を標識剤で標識した標識抗原を免疫学的に反応させることからなることを特徴とする請求項1～4のいずれか一記載の特異的IgM抗体の測定法。

【請求項6】 標識抗体が、アクリジニウム標識抗HAV抗体又はアクリジニウム標識抗HBc抗体である請求項5記載の特異的IgM抗体の測定法。

【請求項7】 対象抗原が、HAV抗原又はHBc抗原である請求項1～6のいずれか一記載の特異的IgM抗体の測定法。

【請求項8】 HAV抗原試薬が、イン・ビトロの細胞培養法で得られたHAV抗原を界面活性剤で処理したものである請求項1～7のいずれか一記載の特異的IgM抗体の測定法。

【請求項9】 界面活性剤が、アニオン性界面活性剤である請求項8記載の特異的IgM抗体の測定法。

【請求項10】 アニオン性界面活性剤が、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)又はラウリル硫酸ナトリウム(LDS)である請求項9記載の特異的IgM抗体の測定法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、抗ヒトIgM抗体試薬を使用して、被検試料中の対象抗原に対する特異的IgM抗体を免疫学的に測定する方法において、被検試料を少なくともIgMまたはIgM含有水溶液により希釈することを特徴とする特異的IgM抗体測定試薬及びその

試薬を用いた測定方法に関する。

【0002】

【従来技術及び解決すべき課題】免疫学的測定法は、人の臨床における検査や病気の診断に広く利用される他、動物についてもその臨床検査や病気の診断、さらにはその他の広い範囲の測定対象物の分析、測定、定量、検出などの分野において応用されている。この免疫学的測定法は、抗原とその抗原に対する抗体との間の抗原抗体反応を利用するものであるが、通常この抗原抗体反応の生起していることの検出は可視的に判別したり、あるいは検知することは困難であるので、その検知、検出を容易にするため様々な手法が開発されてきている。

【0003】そのうち特に急性期において生体内の免疫反応により生じる特異的IgM抗体を測定することは、例えば、ウイルス感染、病原菌感染などの初期感染の診断に用いられて有用であることから注目されている。ところが特異的IgM抗体はリウマチ因子などの妨害を受けたり、IgGなどの干渉を受けるため、その測定が難しいという問題があった。このIgM測定を利用する免疫学的測定法の代表的なものとしては、IgM抗体捕捉測定法が挙げられ、例えば、A型肝炎ウイルス(Hepatitis A virus: HAV)感染の診断、B型肝炎ウイルスコア抗原(Hepatitis B virus core antigen: HBc)、風疹、麻疹、ムンプスなどの診断などに利用されている。

【0004】特に、A型肝炎ウイルス(HAV)は、1973年フェインストーン(Feinstone)等によりA型肝炎急性期患者の便材料のうちに発見され、1977年には実験感染チンパンジー肝組織における増殖の報告がされてのち、1979年には初代マーモセット肝細胞及びアカゲザル胎児腎細胞での増殖が報告されて以来、HAVを培養細胞系では初代及び株化アフリカミドリザル腎細胞、ヒト二倍体細胞などにおいて増殖せしめることが報告されている。

【0005】ところで、現在日本では、A型肝炎ウイルス感染の発生は減少してはいるものの、若年層を中心に抗HAV抗体陰性者が増加するのに対して、一方では高齢者にはその陽性者が多く分布するという状況から、成人ではHAVに汚染された飲食物に接する機会が多くなることに加えて、大人では一旦感染した場合、肝炎の発症につながる恐れが高いことから、そのHAV感染を防ぐ意味でも、正確かつ迅速なHAV感染の有無を検出することが求められている。

【0006】また、HAVは糞便などによる経口感染をその主な伝播経路とするため、環境衛生の不備な地域での感染の危険は大きく、最近では海外渡航の機会も増加し、こうしてHAV感染の検査が、近親者間、従業員者間などでの感染を防ぐ意味でも重要視されている。

【0007】この急性期のHAV感染の検出のために

は、HAV感染に伴って生体内の強い免疫反応により患者の血液中出现する抗HAV抗体、特にHAVに特異的なIgM抗体を検出して行われており、この抗HAV (IgM) 抗体と免疫学的に反応性を有するHAV抗原を試薬として用いる次のようなIgM抗体捕捉測定法が開発されている。代表的なIgM抗体捕捉測定法にしたがう急性A型肝炎の感染診断法は、IgM抗体の μ -鎖に特異性をもつ抗ヒトIgM抗体を使用し、その抗ヒトIgM抗体 (μ -鎖特異抗体) で被覆した固相、例えば下記に示すような固相担体を、測定試料と反応させ、次にHAV抗原試薬と反応させ、最後に標識抗HAV抗体と反応させるというように順次反応させることにより行われている。

【0008】ところが、このような急性期においては血液、血清、血漿などの被検試料中の抗HAV (IgM) 抗体などの測定すべき特異的なIgM及び総IgMの濃度は様々である。一般には、血液中の総IgM量は通常約0.4~2mg/ml存在していることが知られているが、上記した第一反応での抗ヒトIgM抗体で被覆した固相の抗体量が充分でない場合が起こるので、被検試料を前希釈、例えば、高倍率の前希釈を行うことが必要であるという問題がある。従来は、緩衝水溶液、生理食塩水溶液などで被検試料を前希釈していた。こうすると総IgM抗体の量を減ずることになるが、総IgM抗体量に対する特異的なIgM量の比率を減ずることはできない。そのため、必要な測定範囲を得ることが困難であるという問題がある。また自動化された測定系においては、希釈液量が制限されるという問題があり、測定範囲が限定されしまうという問題があった。上記したようにより早い時期で特異的なIgM、例えば、HAV関連抗体を検出したり、前希釈の希釈倍率を低減せしめてより広範囲の測定を可能にし、例えば、A型肝炎患者などの高濃度領域における確実な測定法が、緊急的かつ強く求められている。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記した問題のないそして被検試料の必要な測定範囲を簡単に設定でき、より早い時期で特異的なIgM、例えば、HAV関連抗体を検出したり、前希釈の希釈倍率を低減せしめてより広範囲の測定を可能にする自動化された測定系に適した測定方法を見いだすべく、鋭意研究を行った結果、簡単な方法によりそれらの問題を解決しうることを見出し、本発明を完成した。

【0010】本発明は、抗ヒトIgM抗体試薬を使用して、被検試料中の対象抗原に対する特異的なIgM抗体を免疫学的に測定する方法において、被検試料を少なくともIgMまたはIgM含有水溶液により希釈することを特徴とする特異的なIgM抗体測定試薬及びその試薬を用いた測定方法を提供する。本発明で用いられる測定対象試料としては、全血、血清、血漿、唾液、生体粘液、な

どの生体由来材料をあげることができる。特に測定対象試料としては、全血、血清、血漿が好ましく用いられる。本発明においては、また試料をヒトIgM含有フラクション、精製ヒトIgMなどの水溶液を添加して、試料中のIgM量に影響されることなく、目的の抗原に特異的なIgM抗体を測定できるようにする。約0.005%のヒトIgMを含有する水溶液の場合、その水溶液で試料を約10~500倍に、好ましくは約50~200倍に、さらに好ましくは約70~150倍に、最も好ましくは約80~120倍に希釈してもよい。ヒトIgMの添加処理により、より広範囲の測定を達成することもできるし、測定試料調製の手間、例えば試料濃度の調製などの測定範囲設定が簡易に行うことができるようになり、自動化免疫測定系における適用が容易になる。

【0011】測定対象試料は、必要に応じ上記処理の前に、緩衝剤、希釈液、キレート化剤、保存剤などを添加して用いることができる。試料は、場合によって50~500倍に希釈してもよい。緩衝剤、希釈液又は希釈剤としては、水、リン酸又はリン酸塩緩衝液、トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン (Tris) 緩衝液、例えば生理食塩水などの塩化ナトリウム液、N-(2-ヒドロキシエチル) ピペラジーン-N'-(2-エタンスルホン酸) (HEPES) 液、ピペラジーン-N, N'-ビス (2-エタンスルホン酸) (PIBES) 液、3-(シアノヘキシルアミノ)-1-プロパンスルホン酸 (CAPS) 液、3-(モルホリノ) プロパンスルホン酸 (MOPS) 液、N, N'-ビス (2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸 (BES) 液、N-トリス (ヒドロキシメチル) メチル-2-アミノエタンスルホン酸 (TES) 液、N-(2-アセトアミド)-2-アミノエタンスルホン酸 (ACES) 液、アミノ酸液などが挙げられる。これらは単独でも、任意に組合わせて配合しても用いることができる。キレート化剤としては、エチレンジアミンテトラ酢酸 (EDTA)、エチレンジアミン-β-アミノエチルエーテル-N, N, N', N'-テトラ酢酸 (EGTA) などが挙げられる。これらキレート化剤は、約0.01mM~約20mMの範囲で用いることができる。

【0012】また、試料は、必要に応じ肝炎陰性のヒト血清、血漿、ヒトIgMを含有する水溶液で希釈処理することもできる。より具体的な態様においては、本発明は、試料を一旦緩衝剤、希釈液又は希釈剤などの水溶液で幾分か希釈し、つぎに試料を少なくともIgMまたはIgM含有水溶液により希釈した後、試料中の抗ウイルス特異的なIgM抗体などの特定の抗原に特異性をもつIgM抗体を、抗ヒトIgM抗体で被覆した固相担体などと反応させて試料中のIgM抗体を固相抗ヒトIgM抗体と免疫学的に反応させ、(a) つぎにウイルスなどの特定の抗原試薬を免疫学的に反応させ、得られた反応生成物に化学発光標識抗ウイルス抗体などの標識抗体を免

疫学的に反応させるか、または(b)ウイルスなどの特定の抗原試薬を標識剤で標識した標識抗原を免疫学的に反応させることからなることを特徴とする特異的IgM抗体の測定法及びその測定法に用いる試薬が提供される。特に好ましい測定系の例としては、HAV感染の急性期に生ずる、IgM型の抗HAV抗体を患者の血液を測定することにより急性A型肝炎の感染を診断する方法が挙げられる。このIgM型の抗HAV抗体を特異的に測定する系では、 μ -鎖特異性の抗ヒトIgM抗体で被覆した固相、例えば下記に示すような固相担体を、測定試料と反応させ、次にHAV抗原試薬と反応させ、最後に標識抗HAV抗体と反応させるというように順次反応させることにより行われる。

【0013】本発明に従ったIgM型の抗HAV抗体を特異的に測定する系で用いられるHAV抗原試薬は、イン・ビトロの細胞培養法で得られたウイルス抗原を用いている。それは感染細胞を溶菌化して得られた細胞ライゼートから分離されたHAV抽出物あるいはそれから誘導されたものが挙げられる。そのHAV抽出物は、例えばアフリカミドリザル腎培養細胞、ヒト肝臓腫瘍セルラインPLC/PRF/5、Hep. G2などのHAV感染細胞であって培養しうるもので、さらに好ましくは大量にHAVを産生しうるセルライン細胞を、公知の生育培地、例えばイーグル最小必須培地(Eagle's MEM)、ダルベッコ最小必須培地(Dulbecco's MEM)、PRM1-1640(Gibco社)、Eagle's MEM)、N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジーン-N'-(2-エタンスルホン酸)(HEPES)緩衝液添加イーグルMEM、リン酸緩衝化L-15-a培地、ハanks液(Hanks' balanced salt solution)などの生育培地で、必要に応じウシ胎児血清(FCS)、ペニシリン、トレプトマイシンなどの抗生物質、酵母抽出液、バクトペプトン、ラクトアルブミン加水分解物、その他細胞成長因子などを添加したものの中で培養し、次にこうして得られた細胞培養物から次のようにして得られる。

【0014】つまり、上記のようにして得られた細胞培養物から栄養培地を除去し、ついで細胞を生理的食塩水、リン酸塩などで緩衝化された溶液などで、必要に応じEDTAなどのキレート化剤を添加したもので洗浄する。こうして単離・収穫された細胞を、代表的にはEDTAなどのキレート化剤及びポリオキシエチレンエーテル(代表的なものは、0.5%のTriton X-100などの商品名で入手しうる)などの非イオン界面活性剤を含むリン酸塩などで緩衝化された溶液、例えば1mMのEDTA及び0.5%のTriton X-100を含むリン酸塩緩衝化溶液、あるいはデオキシコール酸塩を含むリン酸塩などで緩衝化された溶液でもって溶菌処理し、こうして得られた細胞ライゼートを、必要に応じ、

例えば約10~15分間インキュベーション処理し、つぎに遠心処理、例えば約1,000~20,000×g、好ましくは約2,000~10,000×gで、約5~60分間、好ましくは約10~30分間遠心処理し、HAV抽出物を得ることができる。このように、細胞ライゼートからその核由来物質、細胞オルガネラ、破砕物などを遠心分離処理して除き、A型肝炎ウイルスが得られている。HAV抽出物は、例えば米国特許明細書第4,721,675号に記載のようにしても得られる。HAV抽出物は、必要に応じ、例えばクロロホルム抽出法、酵素処理法、蔗糖濃度勾配遠心分離法などでさらに精製することもできる。

【0015】こうして得られたHAV抽出物は、つぎに公知の方法又はそれを修飾した方法によりその感染性を不活性化するための処理がなされる。不活性化処理は、例えばホルマリン液で処理する、例えば約37℃で約25~45%ホルマリン溶液の約1:3000~1:7000希釈下、例えば、1:4000希釈下にインキュベーション処理することにより行うことができるが、その他適切な方法を公知のものの中から選んで適用することが出来る。この処理は、例えば、2週間行うこともでき、さらにそれより短い時間あるいは長い時間でもよい。この処理の際の処理液においては、必要に応じ、緩衝剤、希釈液又は希釈剤、キレート化剤、保存剤などを添加して用いることもできる。

【0016】緩衝剤、希釈液又は希釈剤としては、水、リン酸緩衝液、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(Tris)緩衝液、生理食塩水などの塩化ナトリウム液、N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジーン-N'-(2-エタンスルホン酸)(HEPES)液、ピペラジーン-N,N'-ビス(2-エタンスルホン酸)(PIBES)液、3-(シアノヘキシルアミノ)-1-プロパンスルホン酸(CAPS)液、3-(モルホリノ)プロパンスルホン酸(MOPS)液、アミノ酸液などが挙げられる。これらは単独でも、任意に組合わせて配合しても用いることができる。キレート化剤としては、エチレンジアミンテトラ酢酸(EDTA)、エチレンジアミンテトラ酢酸(EGTA)などが挙げられる。

【0017】本発明によれば、こうして得られた感染性が不活性化されたHAV抽出物は、それをそのままHAV抗原として用いることもできるし、さらにそれをつぎに界面活性剤で処理し得られたものも用いることができ、こうした界面活性剤処理HAV抽出物は好ましいものとして使用できる。界面活性剤としては、適切なものを公知又は市販のものの中から選んで用いることができ、特にアニオン性界面活性剤が適している。

【0018】アニオン性界面活性剤としては、ステアリン酸カリウムなどの炭素数12~18の高級脂肪酸のア

10

20

30

40

50

ルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩、胆汁酸のアルカリ金属塩、炭素数12～18の高級脂肪酸のトリエタノールアミンなどの有機塩基塩、ラウリル硫酸ナトリウム(LDS)、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)などの炭素数12～18の高級脂肪酸又は高級アルコールの硫酸エステル、アルキルスルホン酸塩、アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムなどのアルキルアリースルホン酸塩などが挙げられ、特にLDS、SDSは著効を示す。アルカリ金属としては、ナトリウム、カリウム、リチウムなど、アルカリ土類金属としては、カルシウム、マグネシウムなどが挙げられる。

【0019】これら界面活性剤は、共存する蛋白質の量に応じて、その使用量を選ぶことが好ましく、例えば約0.001%v/v～約10%v/vの範囲で用いることができる。特に好ましくはSDSを用い、約0.05%v/v～約5%v/v、より好ましくは共存する他の蛋白質が存在しない場合には約0.5%v/v～約1.0%v/vの範囲で用いることができる。

【0020】界面活性剤でHAV抽出物を処理するにあたっては、必要に応じHAV抽出物を緩衝剤、希釈液又は希釈剤などで希釈し、所要濃度を与える界面活性剤溶液と混合するか、懸濁する。こうして得られた混合物は、必要に応じ攪拌処理されることができる。また場合によっては、混合物中にガラスビーズなどを加えて攪拌処理してもよい。攪拌処理は、測定感度を改善しうるものであれば、例えば穏やかな混合のみで済ますこともできるし、激しい攪拌混合であることもできる。処理温度は、室温で行うこともできるし、冷却下行うこともできるし、37℃あるいはそれ以上の温度とすることも測定感度を改善しうるものであれば、採用できる。界面活性剤で処理されたHAV抽出物は、そのまま次の処理に使用できるし、あるいは一旦保存したのち次の処理に使用できるし、また必要に応じ遠心分離などの分離処理をし、さらに必要に応じ洗浄などの処理をして後次の処理に使用できる。これらの処理は、測定時の非特異吸着を抑制し、感度を改善しうるように選ぶことができる。

【0021】本発明の界面活性剤処理の際の処理液においては、緩衝剤、希釈液又は希釈剤、キレート化剤、保存剤などを添加して用いることができる。緩衝剤、希釈液又は希釈剤としては、水、リン酸又はリン酸塩緩衝液、Tris緩衝液、例えば生理食塩水などの塩化ナトリウム液、HEPES液、PIBES液、CAPS液、MOPS液、N,N'-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸(BES)液、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-2-アミノエタンスルホン酸(TES)液、N-(2-アセトアミド)-2-アミノエタンスルホン酸(ACES)液、アミノ酸液などが挙げられる。これらは単独でも、任意に組合わせて配合して用いることができる。キレート化剤としては、EDTA、EGTAなどが挙げられる。

【0022】本発明によれば、HAV抽出物は、必要に応じて、その感染性を不活性化する前に上記界面活性剤で処理し、つぎに得られた界面活性剤で処理されたHAVを、公知の方法又はそれを修飾した方法により不活性化処理してもよい。不活性化処理は、上記と同様にしてもよく、例えば約37℃で約3%ホルマリン溶液の1:4000希釈下にインキュベーション処理することにより行うことができる。

【0023】より具体的な態様において、本発明で用いられるHAV抗原試薬は、イン・ビトロの細胞培養法で得られた細胞ライゼートから得られたHAV抽出物を約0.5%v/v～約1.0%v/vの範囲の濃度のドデシル硫酸ナトリウム(SDS)液と混合し、つぎに必要なに応じ、例えば室温で3時間インキュベーション処理し、SDS処理HAV抽出物を得ることによって提供されるものであることもできる。本発明では、少なくともIgMまたはIgM含有水溶液処理工程と組合せ、その該得られたSDS処理HAV抽出物を用いた試料中のHAV抗体の免疫測定試薬及びそれを用いた試料中の抗体の測定法も提供される。

【0024】本発明における特異的IgM抗体を測定するにあたっては、ラジオイムノアッセイ、酵素免疫測定法、蛍光免疫測定法、及び化学発光免疫測定法などの方法によることができる。特に化学発光免疫測定法、例えばIgM捕捉固相化学発光免疫測定法は自動化された測定ができ好ましい方法である。

【0025】本発明において試料中の特異的IgM抗体を測定するにあたっては、抗原抗体反応にあずかる抗原や抗体は、必要に応じて、例えば、寒天、アガロース、セルロース、紙、ニトロセルロース、デキストラン、ゼラチン、キチン、コラーゲン、綿などの生体由来高分子あるいは天然物由来高分子、ポリスチレン、ポリエチレン、ポリビニルアルコール、ポリアクリルアミドなどのアクリル樹脂、イオン交換樹脂、光架橋樹脂、テフロン、ポリアセタールなどの合成高分子、ガラスビーズ、シリカゲル、アルミナ、セラミック、カーボン、硫酸マグネシウムなどの無機質材料などからなる、微粒子、ビーズ、マイクロプレート、マイクロタイターウェル、マイクロチューブ、トリップ、メンブレン、トレイ、ゲルなど、さらには赤血球、ラテックス粒子、乳剤などの固体担体に固定しておき、この固定担体を、分析対象としての抗体等を含有する試料と接触させ、こうして固定担体に固定された抗原と、分析試料中の抗体等とを特異的に結合反応せしめ、この特異的に結合した分析対象物を検知することによりおこなうことができる。

【0026】好ましい態様において、本発明では試料と反応せしめられる抗ヒトIgM抗体結合固体担体あるいは粒子状担体などとしては、ポリスチレン製のビーズ、ポリスチレン製の微小粒子などを用いることができる。また、抗体としては、ヒトIgMに対する抗体であれば

特に限定されることがなく用いることができる。抗体は常法により得ることができ、例えば村松繁、他編、実験生物学講座14、免疫生物学、丸善株式会社、昭和60年、日本生化学会編、続生化学実験講座5、免疫生化学研究法、東京化学同人、1986年、日本生化学会編、新生化学実験講座12、分子免疫学ⅠⅠⅠ、抗原・抗体・補体、東京化学同人、1992年などに記載の方法に準じて、例えばウマ、ウシ、ヒツジ、ウサギ、ヤギ、ラット、マウスなどを免疫するなどして得たり、モノクローナル抗体であることもでき、これらは単独でもあるいはこれらを組合せて用いることは任意にできる。これら抗体は、必要なら、ペプシン、パペインなどの酵素で消化して、F(a b')₂、F a b'として使用してもよい。抗ヒトIgM抗体としては、好ましくはμ鎖に対して特異的に反応する抗体、抗μ鎖-ヒトIgM抗体が挙げられ、これらはマウスミエローマ細胞を用いて細胞融合技術を利用して得られたモノクローナル抗体であってもよいことはいうまでもない。また、抗HAV抗体は、高力価を有するヒトHAV陽性血清又は血漿から得られたものが利用できるが、上記したようにモノクローナル抗体であってもよいことはいうまでもない。抗HBc抗体は、ウイルス培養物から得ることもできるが、遺伝子組換えの手法を用い、大腸菌、酵母などで発現させた組換え抗原であることもできる。

【0027】ラジオイムノアッセイ、酵素免疫測定法、蛍光免疫測定法、化学発光免疫測定法などでは、

¹²⁵I、³Hなどの放射性物質、西洋わさびペルオキシダーゼ、β-D-ガラクトシダーゼ、アルカリフォスファターゼなどの酵素、フルオレッセインなどの蛍光色素、アクリジニウムエステル類などの化学発光色素、金コロイド、セレンコロイドあるいは有色ラテックス粒子などの有色物質などで標識された抗原あるいは二次抗体が試薬として用いられ、分析試料中の抗体、複合体等と特異的に結合反応せしめられ、その放射活性、酵素活性、化学発光あるいは色の有無などを測定して、試料中の抗体等が存在していたか否かを判別することができる。本発明においては、特に化学発光標識法、例えばアクリジニウムエステル類あるいは蛍光標識法、例えば発光ランタニドなどで標識された二次抗体試薬を用いる蛍光あるいは化学発光免疫測定法は自動化された測定ができ好ましい方法である。特にアクリジニウムエステル類で標識された二次抗体試薬を用いる化学発光免疫測定法は自動化された測定ができ好ましい。

【0028】アクリジニウムエステル類としては、例えば特開昭62-39598号公報、特開昭62-61969号公報、特開昭63-57572号公報、特開昭63-101368号公報、特開昭63-112564号公報、特開平1-199949号公報、特開平1-261461号公報、特開平2-96567号公報、特開平2-133469号公報、特開平2-503268号公

報、特開平2-501772号公報、欧州特許公開出願第0082636号、英国特許明細書第1、461、877号、米国特許明細書第3、539、574号などに記載のN-アルキル又はアリールアクリジニウム-9-カルボン酸エステルなどが挙げられる。

【0029】特に、特開昭63-112564号公報、米国特許明細書第3、539、574号などに記載の10-アルキル・N-アルキル又はアリールスルホニル-N-アルキル又はアリールスルホニルアクリジニウム-9-カルボキサミド、N-メチルアクリジニウム-9-カルボン酸エステルなどは代表的な化学発光標識として挙げられる。アクリジニウム標識の場合、測定前にトリガー試薬処理、例えば過酸化水素、例えば約0.01%~約0.1%の過酸化水素水溶液、及び水酸化ナトリウム、例えば約0.05N~約0.5Nの水酸化ナトリウム水溶液で処理してから、ルミノメーターなどを用いて測定を行うことができる。

【0030】発光ランタニドとしては、例えば欧州特許公開出願第0068875号、米国特許明細書第4、374、120号、米国特許明細書第4、283、382号、米国特許明細書第4、259、313号、米国特許明細書第4、352、751号、米国特許明細書第4、432、907号、欧州特許公開出願第0103558号などに記載のアミノカルボン酸基を持つ発光ランタニドをキレート化できるものなどが挙げられる。また測定前にレーザー光などによる励起処理をして測定を容易にすることもできる。勿論、標識剤は上記のものに限定されることなく、測定に使用される機器、場所などを考慮し、適宜当該分野で使用することが知られているものの中から目的に応じ選択して用いることができる。

【0031】固体担体、粒子状担体あるいは標識などと抗原あるいは抗体などを結合あるいは吸着させるには、当該分野で汎用されている方法を用いることができ、例えばイオン相互作用、疎水相互作用、共有結合などの物理的吸着や化学的結合により行うことができる。例えば、架橋剤としては、グルタルアルデヒド、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド、N,N'-o-フェニレンジマレイミド、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート、N-スクシンイミジル-S-アセチルメルカプトアセテート、N-スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサノ-1-カルボキシレート、N-スクシンイミジル-6-マレイミドヘキサノエート、N-スクシンイミジル-4-ヨードアセチルアミノベンゾエート、N-スクシンイミジル-3-(p-ヒドロキシフェニル)プロピオネート、N-スクシンイミジル-m-マレイミドベンゾエート、N-スクシンイミジル-4-マレイミドブチレート、N-スクシンイミジル-(p-マレイミドフェニル)アセテート、N-スクシンイミジル-4-(p-マレイミドフェニル)ブチレー

トなどが挙げられる。

【0032】固体担体、粒子状担体などの例としては、上記したようなものが挙げられ、例えば寒天、アガロース、架橋アガロース、架橋アルギン酸、架橋グアガム、ニトロセルロースやカルボキシルセルロースなどのセルロースエステルあるいは混合セルロースエステル、ゼラチン、架橋ゼラチン、ラテックス、ゴム、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、スチレン-ブタジエン共重合体、ポリ塩化ビニル、ポリ酢酸ビニル、ポリアクリルアミド、ポリメタクリレート、スチレン-メタクリレート共重合体、ポリグリシジルメタクリレート、アクロレイン-エチレングリコールジメタクリレート共重合体などのポリエステル、ポリアミド、ポリウレタン、ポリエポキシ樹脂などの天然あるいは合成の修飾あるいは非修飾の重合炭水化物、重合炭化水素など、それらの架橋誘導体など、ガラス、例えば活性化ガラス、シリカゲル、カオリン、タルク、シリカ-アルミナ、アルミナ、硫酸バリウムなどの無機材料などからなる群から選ばれたものを、多孔性のゲル、微粒子などにしたものが挙げられる。本発明においては、測定は競合アッセイ、サンドイッチアッセイ、中和アッセイ、固相アッセイ、クロマトグラムアッセイなどに適したようにしておこなうこともできる。

【0033】本発明においては、標識用試薬として、4-ヒドロキシフェニル酢酸、1, 2-フェニレンジアミン、テトラメチルベンジジンなどと西洋ワサビ・ペルオキシダーゼ、ウンベリフェリルガラクトシド、ニトロフェニルガラクトシドなどと β -D-ガラクトシダーゼ、ウンベリフェリルホスフェート、ニトロフェニルホスフェート、NADPなどとアルカリフォスファターゼ、グルコース-6-リン酸・デヒドロゲナーゼなどの酵素試薬、放射性物質試薬、フルオレッセインイソチオシアネート、テトラメチルローダミンイソチオシアネート、アクリジニウムエステル類、発光ランタニドなどを用いている蛍光試薬、発光試薬、化学発光試薬、金コロイド、銀コロイド、セレンコロイドなどのコロイド標識試薬、磁性体試薬、ビオチン標識抗ビオチン抗体などのハプテン標識抗ハプテン抗体検出系試薬などを用いることができる。上記したように本発明においては、特に化学発光標識試薬、例えばアクリジニウムエステル類あるいは蛍光標識試薬、例えば発光ランタニドなどで標識された二次抗体試薬を用いると、測定は自動化され好ましい。

【0034】本発明の測定系においては、前記以外の界面活性剤、緩衝剤、希釈液又は希釈剤、ブロッキング剤、キレート化剤、保存剤などを含有させるようにして用いることができる。好ましいこの界面活性剤としては、ポリオキシエチレンソルビタン（代表的なものは、Tween 20などの商品名で入手しうる）、ポリオキシエチレンエーテル（代表的なものは、Triton X-100などの商品名で入手しうる）、オクチルフ

エノール・エチレンオキサイド縮合物（代表的なものは、Nonidet P-40などの商品名で入手しうる）などが挙げられる。

【0035】緩衝剤、希釈液又は希釈剤としては、上記したような水、リン酸緩衝液、Tris緩衝液、生理食塩水など、HEPES液、PBES液、CAPS液、MOPS液、アミノ酸液などが挙げられる。これらは単独でも、任意に配合しても用いることができる。キレート化剤としては、EDTA、EGTAなどが挙げられる。

10 【0036】保存剤としては、例えばナトリウムアジド、エチルパラベンなどが挙げられる。その他、本発明の測定系には、各種動物の血清、例えばウシ血清、ウシ血清アルブミン（BSA）、ウシ胎児血清（FCS）、ヤギ血清、卵白アルブミン、ゼラチン、各種乳蛋白質、例えばスキムミルク、カゼイン、カゼイン分解物、ホエー蛋白質など、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドンなどからなる群から選ばれたものを添加することができる。

20 【0037】本発明においては、試薬は単一の容器あるいは複数の容器に入れてあり、使用にあたり配合されて用いるようになっていてもよい。IgM抗体測定の代表的なHAV感染診断のための測定系のより具体的な態様においては、本発明は、試料を適当な濃度に生理食塩水などで希釈し、例えば約80~120倍、好ましくは約100倍に希釈し、ついで適当な量のヒトIgM溶液及び抗ヒトIgM抗体結合固体担体あるいは粒子状担体などを反応させ、次に（1）HAV感染培養細胞から収穫されたHAV抽出物又は（2）このHAV抽出物を少なくとも界面活性剤、例えばSDSで処理して得られたHAV抗原と免疫学的に反応させ、得られた反応生成物に化学発光標識抗HAV抗体、例えばアクリジニウム標識抗HAV抗体を免疫学的に反応させ、過酸化水素溶液及び水酸化ナトリウム溶液からなるトリガー試薬と反応させた後検知を行うことを特徴とするHAV抗体の測定法が提供されうる。

30 【0038】イン・ビトロの細胞培養法で得られたウイルス抗原を用いて、試料中の該抗原と免疫学的に反応性の抗体を測定する場合、感染細胞を溶菌化して得られた細胞ライゼートから一旦分離されたHAV抽出物を、さらに界面活性剤で処理したものを、HAV抗原試薬として用いると、予想外にも抗原活性に悪影響を与えることなく、測定感度を大幅に上昇させることができる。

40 【0039】本発明においては、特異的IgM抗体を測定する公知の免疫学的測定法にそれを利用可能であり、例えば、ウイルス感染、病原性微生物感染などにより生ずる特異抗体測定系に応用できると考えられる。ウイルスとしては、単純ヘルペス、帯状ヘルペス、水痘ウイルス、ムンプス、麻疹、風疹、AIDSウイルス（HIV）、B型肝炎ウイルス（HBV）、C型肝炎ウイルス（HCV）などが挙げられ、病原性微生物などとして

は、ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*)、破傷風菌 (*Clostridium tetani*)、コレラ菌 (*Vibrio cholerae*)、ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*)、ウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*)、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、例えば、MRSA、赤痢菌 (*Shigella dysenteriae*)、百日咳菌 (*Bordetella pertussis*)、チフス菌 (*Salmonellatyphi*)、パラチフスA菌 (*Salmonella paratyphi*)、腸炎菌 (*Salmonella enteritidis*)、結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) などが挙げられる。

【0040】

【実施例】次に実施例を示して、本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこの具体例により限定されるものでなく、その思想に従うかぎり各種の形態で実施できることは理解されるべきである。

【0041】実施例1

I g Mの調製

市販のヒトI g M溶液 (米国ケミコン・インターナショナル社製 [Chemicon International, USA.]) を使用の前に0.1%アジ化ナトリウムを含有する0.02Mのトリス (Tris) 緩衝液 (pH8.5) 中に希釈し、I g M試薬とした。

【0042】抗ヒト μ -I g M抗体被覆微粒子の調製
ヤギから得られたヒトI g Mの μ 鎖に対して特異性をもポリクローナル抗体 (米国ジャクソン・イムノ・リサーチ・ラボ社製 [Jackson ImmunoResearch Labo., USA.]) をカルボキシル化ポリスチレンラテックス微粒子 (米国セラダイン社製 [Seradyn, USA.]; 0.2 μ m) に以下に記載の方法で結合した。まず、0.015MのMES (2-[N-モルホリノ]エタンスルホン酸) 緩衝液 (pH4.7) 中の1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド (EDAC; 16mg/ml) を用いてポリクローナル抗体抗ヒトI g M抗体 (160mg/ml) を室温で1.5時間かけて結合した。次に1%ツイーン (Tween) 20及び0.9% NaClを含有する0.05Mのリン酸緩衝液 (pH7.2) を用いて洗浄した。最終的には、0.05%ゼラチン、0.1%ツイーン20、0.9% NaCl及び0.1%アジ化ナトリウムを含有する0.01Mのトリス (Tris) 緩衝液 (pH7.4) 中に貯蔵した。被覆微粒子の固形分の%が、0.0625%になるように貯蔵バッファーで希釈し、抗ヒト μ -I g M抗体被覆微粒子試薬とした。

【0043】アクリジニウム標識抗HAV抗体の調製
 β -アラニンアクリジニウム (1mg) を無水ジメチルホルムアミド (DMF) (100 μ l) 中に溶解し、N-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) (5.75mg/ml、50 μ l) 及びEDAC (9.6mg/ml、50 μ l) を連続して添加し、暗所、25℃で48時間

攪拌することにより活性化した。プロテインA精製モノクローナル抗HAV抗体 (1mg/ml) を含有している、0.9% NaCl及び0.5% CHAPSを含む0.1Mのリン酸緩衝液 (pH8.0) に活性化アクリジニウムを加え (抗体の4倍のモル数)、反応混合物を室温中で10分間攪拌した。緩衝液を0.1% CHAPS、0.1%アジ化ナトリウム及び0.9% NaClを含有する0.01Mのリン酸緩衝液 (pH6.3) に置き換えた後、調整物を遠心分離にかけ、上清を置換後のものと同じ緩衝液で平衡化したバイオシル SEC 250 (米国バイオラド社製 [BioRad, USA.]) のHPLCカラム上のクロマトグラフィーにかけた。それぞれのフラクション (1ml) を369nm及び280nmでの紫外分光分析により分析し、アクリジニウムの結合量を決定した。結合体を濃縮フラクション (約100 μ g/ml) 中、約4℃で貯蔵し、使用前に1%カゼインナトリウム、0.1%ツイーン20、0.1%アジ化ナトリウム、5mM EDTA及び0.9% NaClを含有する0.05Mのリン酸緩衝液 (pH6.3) で希釈し、アクリジニウム標識抗HAV抗体試薬とした。

【0044】HAV抗原の調製

HAVは栄養培地中のバースーアレキサンダー細胞 (Barth-Alexander Cells) を用いて培養した。培養細胞に、0.5% トライトン (Triton) X-100を含有しかつ5mM EDTA及び0.9% NaClを含む0.02Mリン酸緩衝液 (pH7.2) を混合し、36℃で16~68時間攪拌した後、遠心分離にかけ、上清を捨てることにより、HAV抽出物をホルムアルデヒド希釈倍率で1:4000となるように添加した後、36℃で3日間攪拌して、HAVの感染性を不活性化した。不活性化したHAV抽出物は、1%牛血清アルブミン、0.05%ツイーン20、0.1%アジ化ナトリウム、5mM EDTA及び0.9% NaClを含有する0.01Mのリン酸緩衝液 (pH7.2) で希釈し、HAV抗原試薬とした。HAV抗原試薬は使用時まで4℃で貯蔵した。

【0045】アッセイ

HAVAB-M陽性パネル試料を生理食塩水で希釈した。希釈試料をI g M試薬 (30 μ l) を用いてさらに5倍に希釈した。比較としてHAVAB-M陰性パネル試料を生理食塩水で希釈した後に、I g Mを希釈する際に用いた緩衝液を用いてさらに5倍に希釈した。希釈した試料 (125 μ l) を容器に入れ、これに抗ヒト μ -I g M抗体被覆微粒子試薬 (30 μ l) を添加し、37℃で20分間反応させた。反応した微粒子をガラス繊維フィルターで捕捉し、0.1Mのホウ酸緩衝液 (pH8.5) (300 μ l) で2回洗浄した。次にHAV抗原試薬 (30 μ l) をフィルター表面に添加し、37℃で20分間フィルター表面に捕捉されている微粒子と反

応させた。フィルターを0.1Mのホウ酸緩衝液(pH 8.5)(100 μ l)で1回、そして同緩衝液(300 μ l)で1回洗浄した。次にアクリジニウム標識抗HAV抗体試薬(30 μ l)をフィルター表面に添加し、37℃で10分間フィルター表面に捕捉されている微粒子と反応させた。フィルターを0.1Mのホウ酸緩衝液(pH 8.5)(100 μ l)で1回、そして同緩衝液(300 μ l)で1回洗浄した。

【0046】このフィルターを化学発光読取り機に移し、この中で0.25NのNaOH中の0.4%過酸化水素を含むトリガー溶液(50 μ l)をフィルターに送り込んだ。微粒子に結合したアクリジニウムが発光し、生じた光の量を測定した。低いHAVAB-M陽性パネル試料の濃度では、IgM試薬による希釈処理では2136の発光量(光子カウント)で、IgM試薬添加無しでは13299の発光量(光子カウント)であり、中程度のHAVAB-M陽性パネル試料の濃度では、IgM試薬による希釈処理では5010の発光量(光子カウント)で、IgM試薬添加無しでは16788の発光量(光子カウント)であり、高いHAVAB-M陽性パネル試料の濃度では、IgM試薬による希釈処理では12531の発光量(光子カウント)で、IgM試薬添加無しでは18029の発光量(光子カウント)であった。因みに下記実施例2のようにSDS処理HAV抗原を用いた場合(IgM試薬添加)では、低値パネルでは4381、中値パネルでは11007、及び高値パネルでは11007の発光量(光子カウント)であった。

【0047】実施例2

SDS処理HAV抗原の調製

HAVは栄養培地中のバースーアレキサンダー細胞(Barth-Alexander Cells)を用いて培養した。培養細胞に、0.5%トライトン(Triton) X-100を含有しかつ5mM EDTA及び0.9%NaClを含む0.02Mリン酸緩衝液(pH 7.2)を混合し、36℃で16~68時間攪拌した後、遠心分離にかけ、上清を捨てることにより、HAV抽出物をホルムアルデヒド希釈倍率で1:4000となるように添加した後、36℃で3日間攪拌して、HAVの感染性を不活性化した。不活性化したHAV抽出物にSDSを添加し、室温で24時間攪拌して、SDS処理HAV抽出物を得た。SDSは1.2wt%までの各種濃度となるようにして添加した。SDS処理HAV抽出物は、0.1%のアジ化ナトリウム、5mM EDTA及び0.9%NaClを含む0.01Mリン酸緩衝液(pH 7.2)で希釈して、SDS処理HAV抗原試薬とした。SDS処理HAV抗原試薬は使用時まで4℃で貯蔵した。

【0048】アッセイ

実施例1と同様にして、HAVAB-M陽性パネル試料を生理食塩水で希釈した。希釈試料をIgM試薬(30

μ l)を用いてさらに5倍に希釈した。比較としてHAVAB-M陰性パネル試料を生理食塩水で希釈した後、IgMを希釈する際に用いた緩衝液を用いてさらに5倍に希釈した。希釈した試料(125 μ l)を容器に入れ、これに抗ヒト μ -IgM抗体被覆微粒子試薬(30 μ l)を添加し、37℃で20分間反応させた。反応した微粒子をガラス繊維フィルターで捕捉し、0.1Mのホウ酸緩衝液(pH 8.5)(300 μ l)で2回洗浄した。次にSDS処理HAV抗原試薬(30 μ l)をフィルター表面に添加し、37℃で20分間フィルター表面に捕捉されている微粒子と反応させた。フィルターを0.1Mのホウ酸緩衝液(pH 8.5)(100 μ l)で1回、そして同緩衝液(300 μ l)で1回洗浄した。次にアクリジニウム標識抗HAV抗体試薬(30 μ l)をフィルター表面に添加し、37℃で10分間フィルター表面に捕捉されている微粒子と反応させた。フィルターを0.1Mのホウ酸緩衝液(pH 8.5)(100 μ l)で1回、そして同緩衝液(300 μ l)で1回洗浄した。

【0049】このフィルターを化学発光読取り機に移し、この中で0.25NのNaOH中の0.4%過酸化水素を含むトリガー溶液(50 μ l)をフィルターに送り込んだ。微粒子に結合したアクリジニウムが発光し、生じた光の量を測定した。得られた結果を図1に示す。図1中横軸は試料を生理食塩水で希釈したとき(一回目の希釈)の試料の濃度で、全く希釈していないものを1とした。図1よりヒトIgM含有液で希釈することにより、すぐれた希釈直線性が得られることが判明した。

【0050】こうして、血清中にIgMが多量に存在し、試料血清を多量の希釈液で希釈したとしても、使用担体結合抗体の量がIgM量に対して十分な量無い(例えば、HAV感染者などでは、感染時には血中IgM量が数倍から十数倍程度も増加してしまう)と、該担体結合抗体は全IgMのうち一部の血中IgMとしか結合できなくなり、こうして担体結合抗体と結合できる抗HAV-IgM抗体(以下、単に「HAV-M」という。)の量は、結局HAV-M量/血中総IgM量に比例したものになってしまうことがわかった。つまりいくら試料を希釈してもあるいはいくら試料を濃縮しても担体に結合するHAV-M量は常に一定となってしまう、通常の希釈液による試料の希釈では担体に結合するHAV-M量は少なくなるばかりであることがわかった。一方、試料をヒトIgM含有液で希釈すると担体結合抗体と結合できるHAV-M量は、HAV-M量/(血中総IgM量+添加IgM量)に比例したものとなり、血中総IgM量に関係なく添加IgM量に応じて担体結合抗体と結合できるHAV-M量を調節できる。こうして試料中のIgM量に関係なく、測定HAV-M量を希釈直線性のあるようにした測定系を組み立てることができる。こうして定性的測定でよいなら、IgMを添加しないで測定

するとか、定量化したい場合にはI g Mを添加することにより測定HAV-M量の希釈直線性、及びHAV-M濃度による検出量の直線性を図り容易に達成できる。

【0051】

【発明の効果】被検試料を少なくともI g MまたはI g M含有水溶液により希釈することで、試料中のI g M抗体の測定において、必要な測定範囲を得ることができ、より優れた測定ができる。さらに希釈液量の制限を回避 *

* し、自動化された広範囲の測定系を組み立てることが可能となった。より早い時期（急性期）で特異的なI g M、例えば、HAV関連抗体を検出したり、前希釈の希釈倍率を低減せしめてより広範囲の測定を可能にし、例えば、A型肝炎などの診断・検出を確実にこなうことが可能になる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 試料濃度と発光量との関係を示す。

【図1】

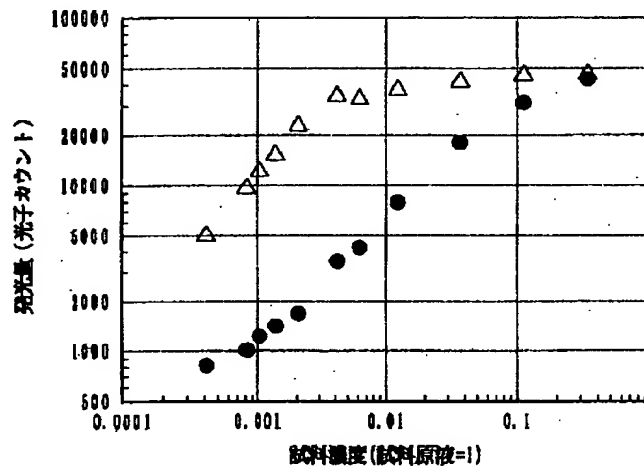


図1 試料濃度と発光量の関係

●: I g M 添加試料, △: I g M 未添加試料